

別記様式第 6 号（第 16 条第 3 項，第 25 条第 3 項関係）

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	野村 元宣
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 CTL-associated and NK cell-associated immune responses induce different HBV DNA reduction patterns in chronic hepatitis B patients （B 型肝炎患者における細胞障害性 T 細胞、NK 細胞関連肝炎による異なった免疫応答と HBV DNA の変化について）			
論文審査担当者			
主査教授	大段 秀樹	印	
審査委員 教授	田中 純子		
審査委員 准教授	入江 崇		
〔論文審査の結果の要旨〕 B 型肝炎ウイルス（HBV）持続感染者の血中 HBV ゲノムを sequence 解析すると、しばしば Pre-S/S 領域に deletion が観察される。この pre-S/S 領域の deletion は、細胞の小胞体に蓄積することで ER stress を惹起すること、VEGF や Cyclin 等の癌関連遺伝子を活性化し、肝発癌に関与していることが示唆されている。一方、Pre-S/S 領域には、免疫応答に関与するエピトープが多数報告されており、肝炎の進行度との関連性が示唆されているが、そのメカニズムに関しては不明な点が多い。そこで、筆者らは、Pre-S 領域の deletion（以下、Pre-S deletion）の割合と肝障害との関連性を明らかにすることを目的として、臨床検体を用いた HBV ゲノムの sequence 解析を行い、Pre-S deletion と臨床病態との関連性を解析した。これまでに、様々な Pre-S deletion が報告されているため、まず、臨床検体を用いて HBV ゲノムの Pre-S/S 領域のシークエンス解析を行い、高頻度に認められる Pre-S deletion として、Pre-S1 領域 nt3016～nt3198 の deletion を同定した。そこで、血清中の deletion を有さないウイルスゲノム（HBV full）と同定した deletion を有するウイルスゲノム（HBV del）の割合を検討するため、血清中の HBV full および HBV del の定量系を新たに構築した。前述したように、これまでの報告から、Pre-S deletion は免疫応答と関連していることが示唆されたことから、観察期間内に ALT 上昇を認めた症例を抽出し、同一症例内における HBV del の割合の経時的変化を検討した。その結果、ALT 正常時には HBV del の割合はほとんど変化せず、ALT 上昇時に HBV del の割合が増加することを明らかにした。さらに、複数回の ALT 上昇が認められた症例の経時的な観察により、ALT 上昇に伴う HBV del の割合増加が生じる場合と生じない場合があることを明らかにした。一方、HBV del の割			

合変化と HBV に対する免疫応答との関連性については不明であったため、この HBV de1 の割合変化の相違を確認する目的で、HBV 持続感染ヒト肝細胞キメラマウスモデルを用いた解析を行った。肝障害を発症しないマウスおよび核酸アナログ製剤によるウイルス増殖抑制を行ったマウスでは観察期間中 HBV de1 の割合が変化しなかったのに対して、細胞傷害性 T リンパ球（CTL）関連肝炎を誘導したマウスでは、肝障害出現とともに HBV de1 の割合は有意に増加した。しかしながら、ナチュラルキラー（NK）細胞関連肝炎を誘導したマウスでは肝障害が出現しても HBV de1 の割合は変化せず、HBV de1 の割合変化には宿主内の免疫応答が強く関与していることが示された。最後に、HBV 持続感染者の病期と HBV de1 の割合との関連性を明らかにするため、HBV 持続感染者 59 例を用いて、HBV de1 および HBV full 量を定量した。この 59 例の患者を慢性肝炎患者群と無症候性キャリア群の 2 群に分けて比較検討した所、無症候性キャリア群では HBV de1 の割合が 5%以下の症例が多かったのに対し、慢性肝炎患者群では HBV de1 の割合が 5%を超える症例が有意に高かった（ $P = 0.023$ ）。本研究は HBV 持続感染者における ALT 上昇には NK 関連性および CTL 関連性の肝傷害が関与しており、CTL 関連肝障害時には血清中の HBV de1 の割合が上昇することを明らかにした。さらに、HBV-de1 の割合を測定することで慢性肝炎例と無症候性キャリア例を区別できる可能性を示した。

以上の結果から本論文は、HBV 持続感染患者の増悪のメカニズムの一端を明らかにし、HBV de1 の割合が病期・病態予測において有用なマーカーであることを示した点で高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医 学 ）	氏名	野村 元宣
学 位 授 与 の 条 件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>CTL-associated and NK cell-associated immune responses induce different HBV DNA reduction patterns in chronic hepatitis B patients (B 型肝炎患者における細胞障害性 T 細胞、NK 細胞関連肝炎による異なった免疫応答と HBV DNA の変化について)</p>			
<p>最終試験担当者</p> <p>主 査 教 授 大 段 秀 樹 印</p> <p>審査委員 教 授 田 中 純 子</p> <p>審査委員 准教授 入 江 崇</p>			
<p>〔最終試験の結果の要旨〕</p> <p style="text-align: center;">判 定 合 格</p> <p>上記 3 名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成 30 年 11 月 1 日の第 76 回広島大学研究科発表会（医学）及び平成 30 年 11 月 5 日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 Pre-S1 deletion に関する過去の文献報告の概要 2 解析症例における CTL の関わり 3 Pre-S1 deletion の一般症例における出現頻度 4 研究成果の臨床応用の可能性 5 核酸アナログの Pre-S1 deletion への関与機序 6 Pre-S1 deletion と発癌との関連 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			